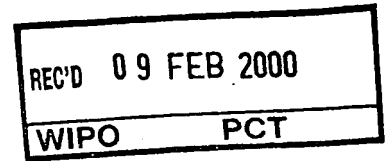


证 明



本证明之附件是向本局提交的下列专利申请副本

申 请 日： 99 04 05

申 请 号： 99 1 03588.7

申 请 类 别： 发 明

发 明 创 造 名 称： 一种匙羹藤提取物及其制备方法和用途

发明人或设计人： 叶文才 车镇涛 戴 岳 朱兴祥

丛晓东 胡慧娟 赵守训

申 请 人： 山东绿叶制药股份有限公司



**PRIORITY
DOCUMENT**
SUBMITTED OR TRANSMITTED IN
COMPLIANCE WITH RULE 17.1(a) OR (b)

中 华 人 民 共 和 国

国家知识产权局局长

姜颖

2000 年 01 月 25 日

1.一种匙羹藤提取物的制备方法,它包括下列步骤:将匙羹藤叶粗粉用 60-95% 的乙醇回流提取 1-4 次,每次提取溶剂用量为 6ml/g,提取时间 1-3 小时,合并乙醇提取液,加压回收至无醇味,用环己烷萃取所得到的浓缩液 1-3 次,每次使用溶剂量为 500ml,然后再用 500ml 的正丁醇萃取 1-3 次,合并正丁醇萃取液,减压回收,得到干浸膏状物即得。

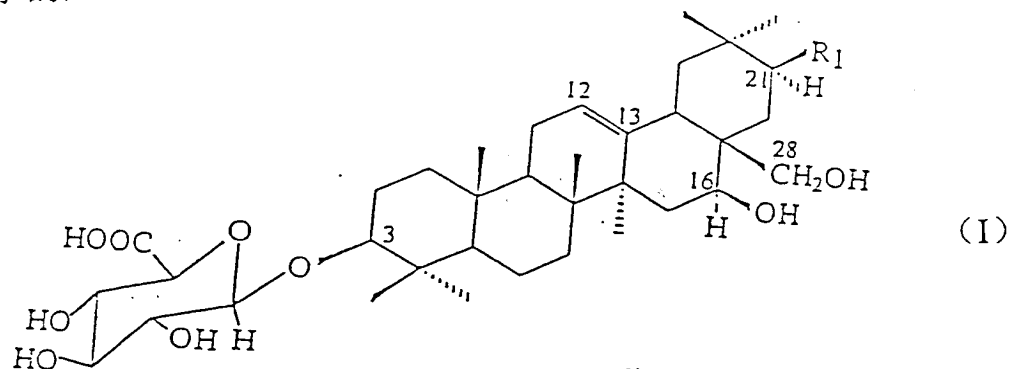
2.根据权利要求 1 所述的方法,其特征为使用 75% 的乙醇。

3.根据权利要求 1 或 2 所述的方法,其特征为提取次数为 3 次,提取时间为 2 小时。

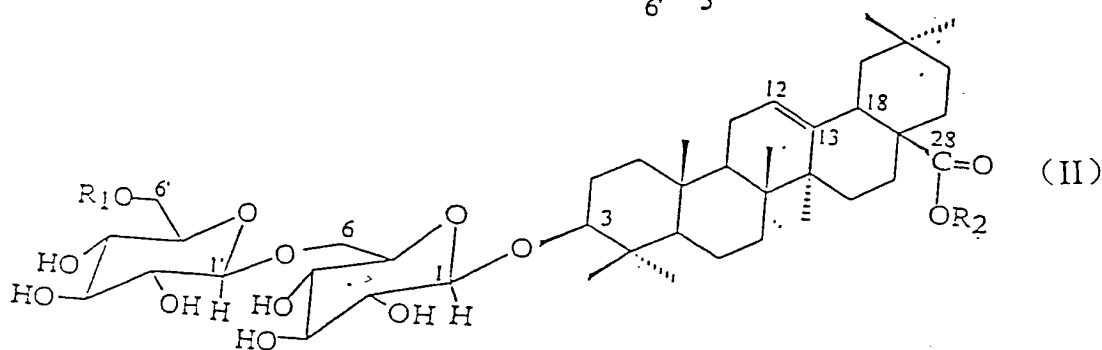
4.根据权利要求 1-3 中任何一个所述的方法,其特征为环己烷萃取次数为 3 次,正丁醇的萃取次数为 3 次。

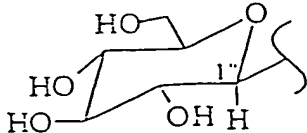
5.权利要求 1-4 中任一方法制备的匙羹藤提取物,其特征为它主要由总三萜皂甙、黄酮甙、花色素、多糖等成分组成,其中总三萜皂甙的含量为 50-99%。

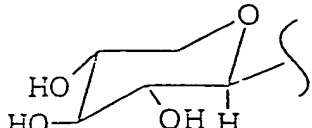
6.根据权利要求 5 所述的匙羹藤提取物,其特征为所述的总三萜皂甙中含有 25-40% 的六种新三萜皂甙化合物,其中用 GA-1 到 GA-6 表示的六种新三萜皂甙化合物分别具有式 I 或式 II 的结构:

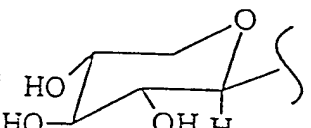
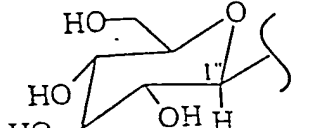


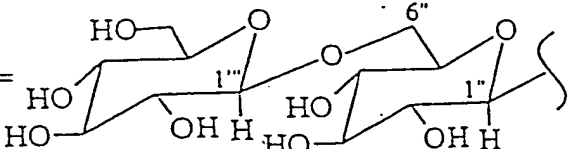
当 $R_1 = \text{H}$ 时,为 GA-1; 当 $R_1 = -\text{O}-\text{C}(=\text{O})-\text{C}_6\text{H}_4$ 时,为 GA-2;



当 $R_1=H$ 并且 $R_2=$  时, 为 GA-3;

当 $R_1=$  并且 $R_2=H$ 时, 为 GA-4;

当 $R_1=$  , 并且 $R_2=$  时, 为

GA-5:
当 $R_1=H$ 并且 $R_2=$  时, 为 GA-6。

7.根据权利要求 6 所述的匙羹藤提取物, 其特征为这六种新三萜皂甙化合物在提取物中的含量分别为 1.25-2.10% 的 GA-1、0.89-1.50% 的 GA-2、2.40-3.80% 的 GA-3、2.10-3.40% 的 GA-4、2.74-4.60% 的 GA-5、3.24-5.40% 的 GA-6。

8.根据权利要求 7 所述的匙羹藤提取物, 其中六种新三萜皂甙化合物在提取物中的含量分别为 1.60% 的 GA-1、1.20% 的 GA-2、3.10% 的 GA-3、2.70% 的 GA-4、3.60% 的 GA-5 和 4.30% 的 GA-6。

9.权利要求 5-8 中任一所述的匙羹藤提取物在制备降糖、降脂和抗血小板凝聚的药物方面的用途。

10.一种含有权利要求 5-8 中任一所述的匙羹藤提取物作活性成分的药物组合物。

11.一种含有权利要求 5-8 中任一所述的匙羹藤提取物作活性成分的胶囊。

一种匙羹藤提取物及其制备方法和用途

本发明涉及一种匙羹藤提取物，该提取物具有降糖、降脂和小板凝聚的活性作用，本发明还涉及该提取物的制备方法和它的用途，尤其是它在制备治疗糖尿病药物方面的用途。此外，本发明又涉及了含有该提取物作活性成分的药物组合。

匙羹藤为萝藦科植物 *Gymnema sylvestre* R. Br.，由于它在印度民间用于抗肿毒、蛇伤、解疟、利尿和降血糖等，所以人们对它所含的成分进行了许多研究和报导，发现其中所含的匙羹藤酸具有降糖活性。发明人经过大量的试验研究，进一步发现匙羹藤提取物的功效优于单一的匙羹藤酸，因为在匙羹藤提取物中含有特定含量的六种新三萜皂甙化合物，到目前为止，尚没有发现含有这六种新三萜皂甙的匙羹藤提取物的文献报导。

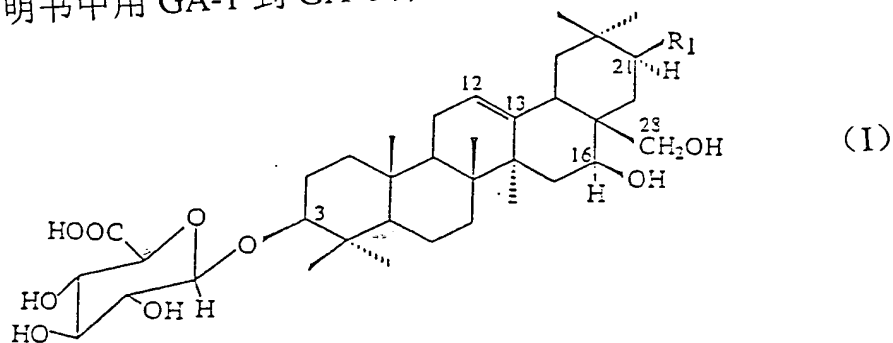
本发明的目的是提供一种匙羹藤提取物。

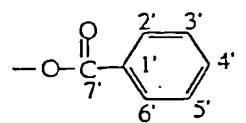
本发明的另一目的是提供该提取物的制备方法。

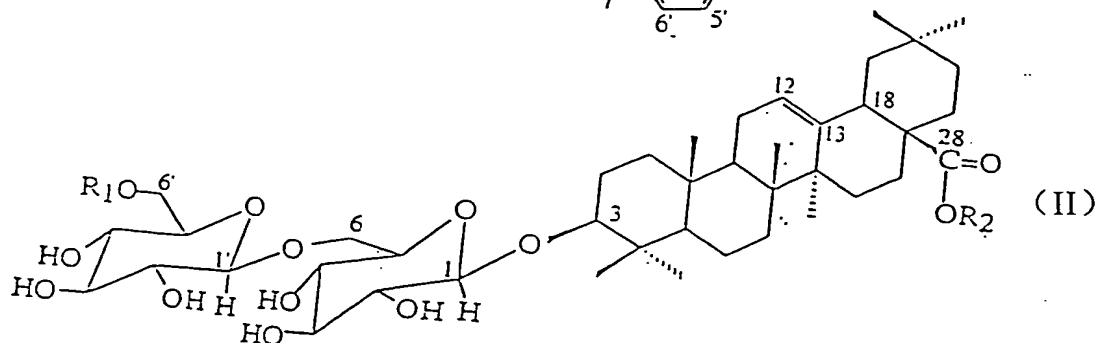
本发明的又一目的是提供含有该提取物作活性成分的药物组合。

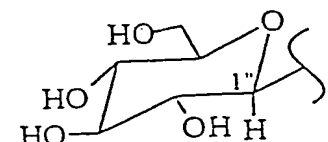
本发明涉及的匙羹藤提取物是这样得到的：将匙羹藤叶粗粉用 60-95% 的乙醇回流提取 1-4 次，每次提取溶剂用量为 6ml/g，提取时间 1-3 小时，合并乙醇提取液，加压回收至无醇味，用环己烷萃取所得到的浓缩液 1-3 次，每次使用溶剂量为 500ml，然后再用 500ml 的正丁醇萃取 1-3 次，合并正丁醇萃取液，减压回收，得到干浸膏状物，即为本发明匙羹藤提取物。其中乙醇的优选浓度为 75%。优选提取次数为 3 次，优选提取时间为 2 小时。环己烷的优选萃取次数为 3 次，正丁醇的优选萃取次数为 3 次。

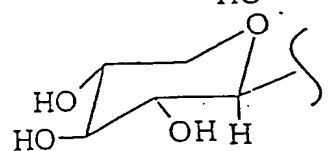
发明人经过深入研究，发现本发明涉及的匙羹藤提取物主要由总三萜皂甙、黄酮甙、花色素、多糖等成分组成，其中总三萜皂甙的含量为 50-99%。在该总三萜皂甙中含有 25-40% 的六种新三萜皂甙化合物，本说明书中用 GA-1 到 GA-6 来表示，它们分别具有式 I 或式 II 的结构：

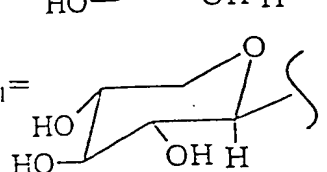
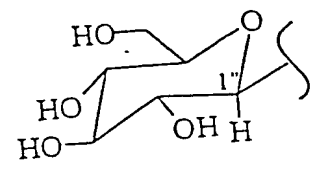


当 $R_1=H$ 时, 为 GA-1; 当 $R_1=$  时, 为 GA-2;

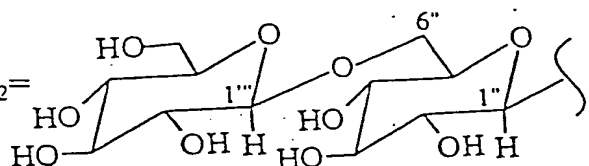


当 $R_1=H$ 并且 $R_2=$  时, 为 GA-3;

当 $R_1=$  , 并且 $R_2=H$ 时, 为 GA-4;

当 $R_1=$  并且 $R_2=$  时,

为 GA-5;

当 $R_1=H$ 并且 $R_2=$  为 GA-6。

这六种新三萜皂甙化合物在本发明提取物中的含量分别为 1.25-2.10% 的 GA-1、0.89-1.50% 的 GA-2、2.40-3.80% 的 GA-3、2.10-3.40% 的 GA-4、2.74-4.60% 的 GA-5、3.24-5.40% 的 GA-6。优选含量分别为 1.60% 的 GA-1、1.20% 的 GA-2、3.10% 的 GA-3、2.70% 的 GA-4、3.60% 的 GA-5 和 4.30% 的 GA-6。当本发明提取物中含有上述优选含量的六种新三萜皂甙化合物时, 本发明提取物的疗效最佳。

本发明匙羹藤提取物具有降糖、降脂和抗血小板凝聚的活性作用。胃肠给药时, 该提取物的 LD_{50} 为 4880mg/kg, 胃肠外给药时, 该提取物的 LD_{50} 为 107.0mg/kg。因此可用它作活性成分制备具有降糖、降脂和抗血小板凝聚作用的药物组合物。

本发明匙羹藤提取物可以作为活性成分与药学上可接受的赋型剂一起用于制备药物组合物, 该药物组合物可以采用本领域的常规方法制备成各种剂型, 如胶囊、丸剂、片剂、口服液、颗粒剂、酏剂等肠道给药的剂型和注射液等胃肠外给药剂型。根据剂型的不同, 该药

组合使用的赋型剂也不同，常用赋型剂包括稀释剂、湿润剂、润滑剂、填充剂、防腐剂等。其中稀释剂为乳糖、淀粉、糊精、微晶纤维素、微粉硅胶等，湿润剂为水和 50-85% 不同浓度的乙醇。含有本发明匙羹藤提取物的药物组合物的优选剂型是口服制剂，最好为胶囊。给药剂量为 100-400mg/人/次，每天 3 次。

以下通过实施例和试验例来详细地说明本发明。

实施例 1

称取匙羹藤干叶粗粉 1000g，用 600ml 的 60% 的乙醇回流提取 3 次，每次 2 小时，合并提取液，减压回收至无醇味，得到浓缩液，把所得到的浓缩液用 500ml 的环己烷萃取 3 次，然后再用 500ml 的正丁醇萃取 3 次，合并 3 次正丁醇萃取液，减压回收得到 64.0g 干浸膏，即本发明匙羹藤提取物。

实施例 2

称取匙羹藤叶粗粉 1000g，用 6.0L 75% 的乙醇回流提取 3 次，每次 2 小时，合并乙醇提取液，把该乙醇提取液减压回收至无醇味，把浓缩液用 500ml 的环己烷萃取，再用 500ml 的正丁醇萃取 3 次，合并正丁醇萃取液，减压回收，得到干浸膏状物 72.0g。

实施例 3

称取匙羹藤叶粗粉 1000g，用 6L 95% 的乙醇回流提取 3 次，每次 2 小时，合并乙醇提取液，把该乙醇提取液减压回收至无醇味，把浓缩液用 500ml 的环己烷萃取，再用 500ml 的正丁醇萃取 3 次，合并正丁醇萃取液，减压回收，得到干浸膏状物 61.0g。

实施例 4

把本发明匙羹藤提取物 100mg 和微粉硅胶 200mg 充分混合均匀，过筛，加入适量的硬脂酸镁，混匀，用干法造粒机制粒，过筛，筛取 40-80 目之间的颗粒，装入胶囊，每粒装 0.3g。

实施例 5

按照实施例 4 所述方法制备胶囊，不同的是使用 200mg 的本发明匙羹藤提取物、100mg 微粉硅胶和适量的硬脂酸镁。

实施例 6

按照实施例 4 所述方法制备胶囊，不同的是使用 250mg 的本发明匙羹藤提取物、50mg 微粉硅胶和适量硬脂酸镁。

实施例 7

按照实施例 4 所述方法制备胶囊，不同的是使用 450mg 的本发明匙羹藤提取物、50mg 微粉硅胶和适量硬脂酸镁。

试验例 1：本发明匙羹藤提取物对蔗糖致大鼠血糖升高的影响

雌性 SD 大鼠，禁食 24h 后，随机分为实验组，一次口服给予本发明匙羹藤提取物 50, 100, 200mg/kg，阳性对照组分别给予降糖灵 100mg/kg，正常组及对照组及空白对照组口服给予等容量蒸馏水，给药体积为 10ml/kg，30min 后，除正常组外，各组口服给予蔗糖溶液 1g/kg (5ml/kg)，并分别于其后 30, 60, 120min，由大鼠眼眶采血 100 μ l，测定血清葡萄糖含量。

结果，大鼠口服蔗糖后 30, 60min 内，血糖值明显上升，本发明匙羹藤提取物 100mg/kg 在 30min，本发明匙羹藤提取物 200mg/kg 和降糖灵 100mg/kg 在 30, 60min 均使大鼠升高的血糖值显著下降，且两者作用强度相近，见表 1。

表 1：本发明匙羹藤提取物对蔗糖致大鼠血糖升高的影响 ($X \pm SD$, $n=10$)

组别	剂量 (mg/kg)	血糖值 (mmol/L)		
		30min	60min	120min
正常组		3.56 \pm 0.64	4.12 \pm 0.72	3.76 \pm 0.69
对照组		6.58 \pm 0.87 $^{\Delta\Delta}$	5.93 \pm 1.27 $^{\Delta\Delta}$	4.54 \pm 1.37
本发明匙羹藤提取物	50	6.03 \pm 0.86	6.42 \pm 0.78	4.26 \pm 1.03
	100	5.12 \pm 1.29*	5.77 \pm 1.09	4.53 \pm 0.94
	200	4.43 \pm 0.72**	4.73 \pm 0.83*	4.07 \pm 0.70
降糖灵	100	4.24 \pm 0.87**	4.74 \pm 0.90*	4.79 \pm 1.03

$^{\Delta\Delta}p<0.01$ ，与正常组比较；* $p<0.05$ ，** $p<0.01$ ，与对照组比较。

试验例 2：本发明匙羹藤提取物对高脂血症大鼠血清甘油三酯、胆固醇含量的影响

雄性 SD 大鼠，体重 130-170g，正常组给予普通饲料，其它各组给予高脂饲料（1%胆固醇、10%猪油、0.3%胆酸、0.2%甲硫基咪唑

88.5%普通饲料，自制成块状饲料）。连续 14 天，大鼠禁食 12h 后，按试剂盒法测定大鼠血清甘油三酯及胆固醇含量，然后，按血脂值进行随机分组。实验组口服给予 50、100、200mg/kg，阳性对照组分别口服安妥明 100mg/kg，对照组给予蒸馏水，给药体积为 10ml/kg，连续 10 天，各组在给药前 5 天仍饲以高脂饲料，后 5 天饲以普通饲料，末次给药前禁食 11h，给药后 1h 采血测血清中甘油三酯及胆固醇含量。

结果，大鼠给予高脂饲料 10 天后，血清甘油三酯及胆固醇含量明显升高，本发明匙羹藤提取物 50、100、200mg/kg 及安妥明 100mg/kg 均使高脂血症大鼠血清甘油三酯及胆固醇水平明显下降，本发明匙羹藤提取物 200mg/kg 的降血脂作用与安妥明 100mg/kg 相近，见表 2。

表 2：本发明匙羹藤提取物对高脂血症大鼠血脂含量的影响 ($X \pm SD$, $n=9-10$)

组别	剂量 (mg/kg)	甘油三酯 (mmol/L)		总胆固醇 (mmol/L)	
		给药前	给药后	给药前	给药后
正常组		1.02±0.22	1.04±0.15	2.43±0.41	1.99±0.47
对照组		2.64±0.82	3.04±0.93	4.10±0.51 ^{△△}	4.77±0.63 ^{△△}
本发明匙羹藤提取物	50	2.72±0.61	2.41±0.44	4.29±0.60	3.92±0.58 ^{**}
	100	2.54±0.90	1.75±0.53 ^{**}	4.02±0.59	2.94±0.66 ^{**}
	200	2.72±0.76	1.37±0.40 ^{**}	4.18±0.61	2.31±0.74 ^{**}
安妥明	100	2.51±0.77	2.72±0.74	4.33±0.51	2.15±0.76 ^{**}

^{△△} $P < 0.01$ ，与正常组比较；^{**} $P < 0.01$ ，与对照组比较。

试验例 3：本发明匙羹藤提取物对体外家兔血小板聚集的影响

家兔心脏穿刺取血，3.8%枸橼酸钾抗凝 (1: 9)，1000rpm 离心 5min，取上层作为富血小板血浆 (PRP)，再以 4000rpm 离心 10min，上清液为贫血小板血浆 (PPP)。将 PPP 200μl 移入比浊管，再加入不同浓度的本发明匙羹藤提取物生理盐水溶液 10μl，终浓度分别为 250, 500, 1000μg/ml，阳性对照管加入阿斯匹林生理盐水 10μl，终浓度为 250μg/ml，空白对照管加入生理盐水 10μl，37°C 温育 2min 后，放入测定孔，搅拌加入 ADP 钠盐生理盐水溶液 10μl，终浓度为 $1.0 \times 10^{-5}M$ ，在 PAM-1 血小板聚集仪上观察 3min 内的最大聚集率。

结果，本发明匙羹藤提取物 500, 1000μg/ml，阿斯匹林 250μg/ml 显著抑制家兔血小板聚集。见表 3。

表 3: 本发明匙羹藤提取物对体外家兔血小板聚集的影响 ($\bar{X} \pm SD$, $n=8$)

组 别	终浓度 (ug/ml)	最大聚集率 (%)	抑制率 (%)
对照组		47.9 ± 5.2	
本发明匙羹 藤提取物	250	43.6 ± 7.0	9.0
	500	$35.9 \pm 4.5^{**}$	25.1
	1000	$27.8 \pm 4.8^{**}$	42.0
阿斯匹林	250	$23.7 \pm 6.0^{**}$	50.3

$^{**}p < 0.01$, 与对照组比较。



11

11